

## アペリン-APJ系は新たに同定された 動脈硬化症増悪因子である

橋本達夫\*, 木原 実\*, 吉田伸一郎\*, 今井のぞみ\*  
下山田博明\*\*, 石田純治\*\*\*, 安崎弘晃\*, 一原直昭\*  
宮本 研\*, 戸谷義幸\*, 北村 均\*\*, 深水昭吉\*\*\*  
梅村 敏\*

### 要 約

最近見出された生理活性ペプチドであるアペリンは、その受容体である APJ を介して作用する。その機能は多彩であり、血管作動物質、体液量調節作用、心筋における陽性変力作用、血管径の制御、アディポカイン、消化管ホルモンなどの報告がある。

我々は血管におけるアペリンの作用を、内皮と平滑筋とに分けて解析し、さらに動脈硬化症という病態との関連について解析した。その結果、アペリン-APJ系は、内皮では血管拡張作用、平滑筋では血管収縮作用という2相性の作用を持ち、さ

らに動脈硬化症に対しては増悪因子であることが判明した。動脈硬化症の新たなターゲットとして阻害薬の開発が期待される。

### はじめに

APJ 受容体は1型アンジオテンシン受容体(AT1)と31%の相同性を持つ7回膜貫通G蛋白結合型の受容体である<sup>1)</sup>。内因性リガンドとしてアペリン(APJ endogenous ligand)が1998年に同定された<sup>2)</sup>。アペリンは77アミノ酸残基のプレプロアペリンとしてコードされているが、このプレプロアペリンからアペリン36以下の生理活性をもつアペリンが切り出される(図1)<sup>3)</sup>。アペリン36や13はアンジ

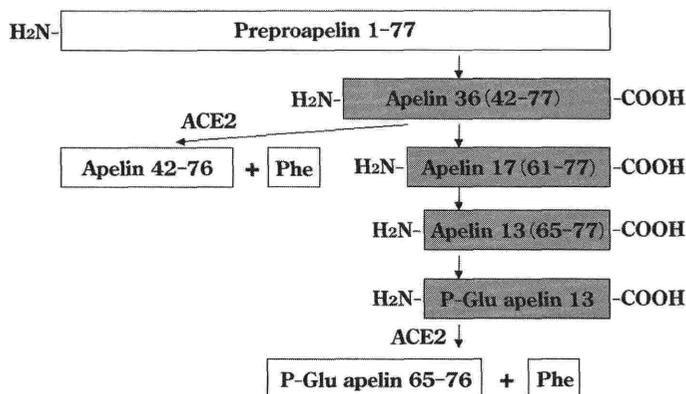


図1 アペリン(文献3より改変)

\*横浜市立大学大学院医学研究科病態制御内科学

\*\*横浜市立大学大学院医学研究科病態病理学

\*\*\*筑波大学先端学際領域研究センター

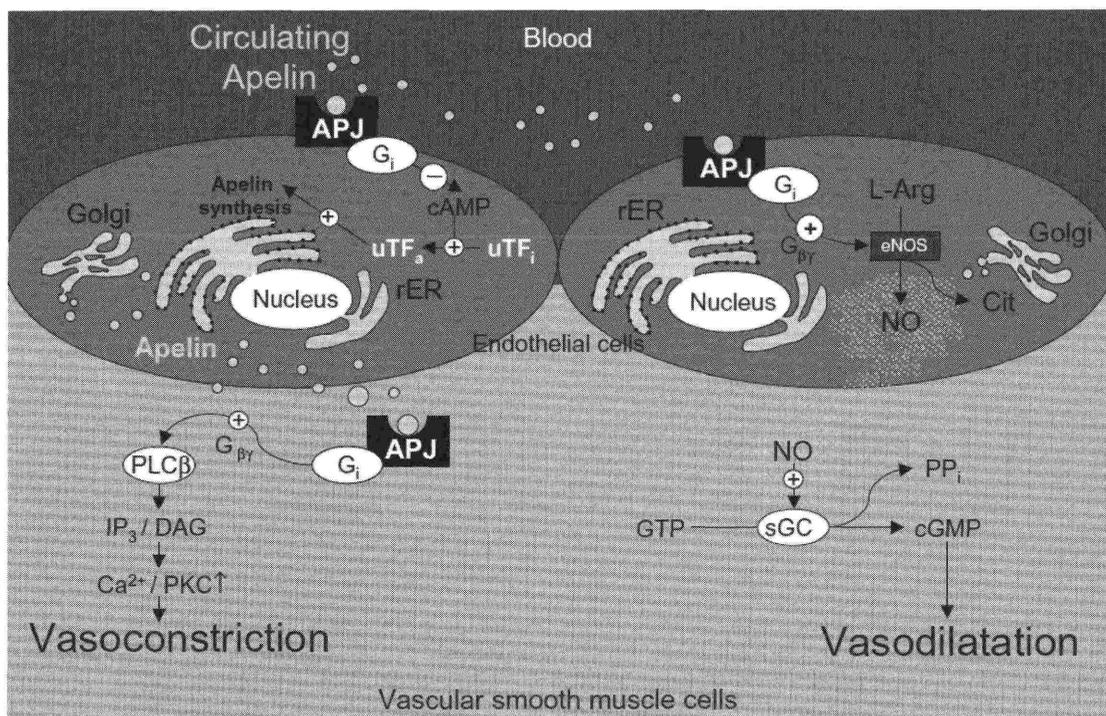


図2 アペリン-APJ系による2相性の作用(文献4より改変)

オテンシン変換酵素2(ACE2)によりC末端でフェニルアラニンが切断され、不活性化されるものと考えられる。アペリンやAPJ受容体は血管内皮細胞をはじめとして様々な組織で発現しており、その生理機能については循環器系を中心に報告が増え始めている。

アペリン-APJ系の血管における作用はやや複雑で、内皮細胞を介した血管拡張作用と、血管平滑筋細胞を介した血管収縮作用との2相性の作用をもつ(図2)<sup>4)</sup>。本稿ではアペリン-APJ系の血管における作用メカニズムについて述べるとともに、動脈硬化症との関連についての最新の知見について紹介する。

### アペリン-APJ系による血管拡張作用

アペリン静注によって血圧低下がみられるとLee DKらが2000年に報告したのが、アペリン-APJ系と血圧についての最初の解析結果である<sup>5)</sup>。血圧低下は、一酸化窒素合成酵素阻害薬(L-NAME)によってキャンセルされたことから、一酸化窒素(NO)が関与していると考えられた<sup>6)</sup>。我々は内皮細胞における内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)活

性がそのメカニズムであることを明らかにした<sup>7)</sup>。アペリンによる血管拡張作用は、血管内皮細胞においてアペリン刺激がeNOS活性化をもたらすことがその機序であると考えられる。

### アペリン-APJ系による血管収縮作用

内皮細胞を剥離した単離血管をアペリン刺激すると、血管が収縮するというKatugampola SDらの2001年の報告を受け<sup>8)</sup>、我々はそのメカニズムを解析した<sup>9)</sup>。培養血管平滑筋細胞や単離血管をアペリン刺激すると、ミオシン軽鎖(MLC)リン酸化が2分をピークとして容量依存性に観察される。このMLCリン酸化は百日咳毒素およびプロテインカイネースC(PKC)阻害剤によって抑制されることから、GiおよびPKCが細胞内情報伝達経路に含まれると考えられた。さらに同様の阻害剤を用いた解析から、ナトリウム/プロトン交換体およびナトリウム/カルシウム交換体も一部関与していると考えられた。以上、アペリン-APJ系は、内皮のeNOSを介して血管拡張作用を、平滑筋のMLCを介して血管収縮作用という2相性の作用を持つことが明らかになった。

## 動脈硬化症への関与

これまで述べてきたように血管に対するアペリン-APJ系の作用は、アンジオテンシン II-AT1系の作用に類似している<sup>10)</sup>。内皮に対するeNOSリン酸化にしても平滑筋に対するMLCリン酸化にしても、両者に共通した作用である。一方、アンジオテンシン II刺激は酸化ストレス刺激作用を持ち、昇圧作用とは独立した動脈硬化増悪因子である。アペリン-APJ系はどうであろうか？

この疑問を明らかにするために、動脈硬化モデルであるApoE遺伝子欠損マウスとAPJ受容体遺伝子欠損マウスを交配してダブルノックアウトマウスを作製し、高コレステロール食負荷により動脈硬化病変を作製した。その結果、ダブルノックアウトマウスではApoE遺伝子欠損マウスに比べて著明な動脈硬化病変の縮小を認めた(図3)<sup>11)</sup>。ダブルノックアウトマウスとApoE遺伝子欠損マウスの血清脂質パラメータに、大きな違いは認めなかった。動脈硬化病変を詳しく観察すると、ダブルノックアウトマウスに形成された病変では、血管平滑筋増殖が抑制されていた。さらにアペリンは、血管平滑筋細胞に対し直接的な酸化ストレス刺激を有し、細胞増殖を促進することも判明した。

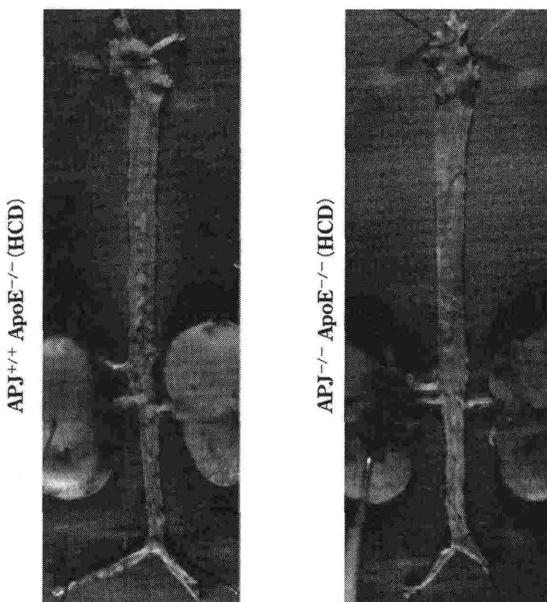


図3 ApoE<sup>-/-</sup>とAPJ<sup>-/-</sup>のダブルノックアウトマウス、高コレステロール食負荷後の大動脈 Sudan IV 染色(文献 11)

アペリン-APJ系は、平滑筋に対して直接的な酸化ストレス刺激作用を持ち、動脈硬化増悪因子として機能しうることが、マウス病態モデルを用いて明らかになった。今後は臨床レベルでの解析、および阻害薬の開発が期待される。

## おわりに

本稿ではアペリン-APJ系の血管における作用を中心に紹介した。アペリン-APJ系の作用は、アンジオテンシン II-AT1と類似しており、ともに動脈硬化増悪因子であることが示唆された。内皮に対するeNOSリン酸化や平滑筋に対するMLCリン酸化など、両者にはいくつかの類似点を見出すことができる。一方、アペリン投与では一過性に血圧が低下するが、アンジオテンシン II投与では血圧が上昇するといった相違点もある。APJ受容体は内皮細胞に多く発現しており、比較的平滑筋には少ない。アペリン投与による血管拡張は、内皮優位の反応と考えることもでき、内皮細胞と平滑筋細胞における受容体の発現バランスの違いが、リガンド投与による反応性の違いを生んでいると考えられる。

アペリン-APJ系には他に、体液量調節作用<sup>12,13)</sup>、心筋における陽性変力作用<sup>14)</sup>、血管径の制御<sup>15)</sup>、アディポカインとしての作用<sup>16,17)</sup>、消化管ホルモンとしての作用<sup>18)</sup>といった多彩な作用が報告されている。心不全や肥満といった病態との関連も報告されてきており、今後の展開が期待される。

## 文 献

- 1) O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, et al: A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene* 1993; 136: 355-60.
- 2) Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al: Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 471-6.
- 3) Beltowski J: Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit* 2006; 12: 112-9.
- 4) Kleinz MJ, Davenport AP: Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther* 2005; 107: 198-211.
- 5) Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al: Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*

- 2000; 74: 34-41.
- 6) Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, et al: The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept* 2001; 99: 87-92.
  - 7) Ishida J, Hashimoto T, Hashimoto Y, et al: Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *J Biol Chem* 2004; 279: 26274-9.
  - 8) Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, et al: [(125)I]-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 1255-60.
  - 9) Hashimoto T, Kihara M, Ishida J, et al: Apelin stimulates myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1267-72.
  - 10) Ramchandran R, Takezako T, Saad Y, et al: Angiotensinergic stimulation of vascular endothelium in mice causes hypotension, bradycardia, and attenuated angiotensin response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 19087-92.
  - 11) Hashimoto T, Kihara M, Imai N, et al: Requirement of apelin-apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis. *Am J Pathol* 2007; 171: 1705-12.
  - 12) Azizi M, Iturriz X, Blanchard A, et al: Reciprocal regulation of plasma apelin and vasopressin by osmotic stimuli. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1015-24.
  - 13) Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, et al: Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem* 2001; 77: 1085-96.
  - 14) Szokodi I, Tavi P, Földes G, et al: Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res* 2002; 91: 434-40.
  - 15) Kidoya H, Ueno M, Yamada Y, et al: Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *EMBO J* 2008; 27: 522-34.
  - 16) Boucher J, Masri B, Daviaud D, et al: Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146: 1764-71.
  - 17) Higuchi K, Masaki T, Gotoh K, et al: Apelin, an APJ receptor ligand, regulates body adiposity and favors the messenger ribonucleic acid expression of uncoupling proteins in mice. *Endocrinology* 2007; 148: 2690-7.
  - 18) Wang G, Anini Y, Wei W, et al: Apelin, a new enteric peptide: localization in the gastrointestinal tract, ontogeny, and stimulation of gastric cell proliferation and of cholecystokinin secretion. *Endocrinology* 2004; 145: 1342-8.